Beiträge zur chemischen Kenntnis der Gerstenspelzen.

Dr. ing. Karl Geys.

Beiträge

zur chemischen Kenntnis der Gerstenspelzen.

Von der

K. Technischen Hochschule zu München

zur Erlangung der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften (Doktor-Ingenieurs) genehmigte Dissertation.

ACAD. LUGD BAT. BIBL.

Vorgelegt von

Karl Geys, Diplom-Ingenieur

aus Würzburg.

Referent:
Prof. Dr. Karl Lintner

Korreferent:
Prof. Dr. Andreas Lipp

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Dezember 1909.

München 1910.

Druck von Jos. Krämer, Tal 30.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555418_0097

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Vorliegende Arbeit wurde auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. C. J. Lintner im gärungschemischen Laboratorium der Kgl. Technischen Hochschule zu München ausgeführt.

Es sei mir gestattet, meinem hochgeschätzten Lehrer, Herrn Prof. Dr. C. J. Lintner, für das wohlwollende Interesse, welches er meinen Studien und dieser Arbeit stets entgegenbrachte, auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Unsere Kenntnisse über die Beschaffenheit der Gerstenspelzen, sowohl in chemischer, als in physikalischer Beziehung sind nur äusserst dürftige. In physikalischer Hinsicht ist der Befund Adrian J. Browns[1]) bemerkenswert, der in der Spelze eine teilweise durchlässige Membran nachwies, die für Wasser und Jod durchlässig ist, jedoch Salze und Säuren in wässriger Lösung nicht passieren lässt. In chemischer Hinsicht ist besonders des Gerbstoffes öfters Erwähnung getan worden. So von Seyffert[2]) und von Reichard[3]), von denen ersterer denselben zu isolieren versuchte, letzterer über den Sitz desselben in der Spelze unter Berücksichtigung ihres anotomischen Baues berichtet und zu dem Resultate kommt, dass als Hauptsitz die Samenschale (testa) in Betracht kommt.

War es nun vom Standpunkt der Pflanzenchemie allein aus von Interesse, über die in den Spelzen auftretenden Stoffe nähere Kenntnis zu erlangen, so hatte diese Frage in dem speziellen Falle bei der Gerste auch eine gewisse praktische Bedeutung. Die Gerstenspelze ist nämlich von der Bierbereitung her als Trägerin unedler, herber und bitterer Geschmaksstoffe bekannt. Dieser unangenehmen Begleiterscheinung suchte man in der Praxis dadurch zu begegnen, dass man die Gerste durch Schälen teilweise von den Spelzen befreite und dieselbe erst in diesem geschälten Zustand dem Mälzungs- und Brauprozesse unterwarf.

Ein patentiertes Schälverfahren von Heymann[4]) wird mit Erfolg zu diesem Zwecke angewandt. Die Schälung wird durch Maschinen bewerkstelligt, wie sie auch in der Gerstengrauppenfabrikation verwendet werden. Die Spelze wird in äussert feiner Schicht abgenommen, so dass die Samenschale und der Embryo völlig intakt bleiben und somit die Keimfähigkeit der Gerste in keiner Weise beeinträchtigt wird. Der durch diese Art des Schälens erzeugte Abgang beträgt rund 1,5 % der angewandten Gerste.

[1]) Annals of Botany vol. XXI. 1907.
[2]) Wochenschrift f. Brauerei 1904, 1906.
[3]) Zeitschrift f. ges. Brauwesen 1904.
[4]) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 1908.

Als Ausgangsmaterial für die folgenden Untersuchungen dienten Gerstenspelzen, die nach dem erwähnten maschinellen Verfahren erhalten waren und von einer Braugerste herrührten.

Die Untersuchung zerfällt in folgende Abschnitte:

I. Allgemeine Analyse des Materials auf die Hauptbestandteile.
II. Der ätherische Extrakt.
III. Der alkoholische Extrakt.
IV. Der wässrige Extrakt.
V. Der salzsaure Extrakt derselben und zwar so, dass die mit Äther extrahierten Spelzen zur alkoholischen Extraktion dienten, diese mit Alkohol behandelten hinwiederum zur wässrigen beziehungsweise salzsauren Extraktion.

I. Die Analyse.

Dieser Abschnitt soll uns mit den Ergebnissen der chemischen Analyse beschäftigen. Gleichzeitig wurden die Resultate zu Vergleichszwecken in Beziehung zur ungeschälten Gerste gestellt. Die einzelnen Bestimmungen wurden nach den für die Gerstenanalyse geltenden Regeln ausgeführt, abgesehen von einigen zweckmässigen Modifikationen. Die Spelzen wurden, um eine homogene Substanz zu erhalten, nochmals auf der Dreefs'schen Mühle gemahlen.

1. Der Wassergehalt betrug im Mittel 7,39 %.

2. Die Stickstoffbestimmung wurde nach Kjeldahl ausgeführt und ergab 1,13 % Stickstoff, der auf Eiweiss berechnet einen Wert von 7,06 % in der Trockensubstanz darstellt.

Es ist interessant diesen Protëinwert mit dem Luff's[1]) zu vergleichen. Luff, der seine Spelzen durch behandeln der Gerste mit verdünntem Ammoniak in der Hitze und nachheriges Abziehen erhält, fand 3,5 % Protëin, wobei der Spelzenanteil 9—10 % der Gerste betrug. Durch die Trennung der Spelzen nach Luff werden somit 0,33 %, durch die maschinelle Schälung 0,1 % Protëin der Gerste entzogen. Einen Durchschnittseiweissgehalt der Gerste von 10—11 % angenommen, bedeutet also die durch das Schälen hervorgerufene Protëinabnahme keine nennenswerte Minderung.

[1]) Zeitschrift f. ges. Brauw. 1898.

3. Die Pentosane wurden nach Tollens[1]) bestimmt. Das Verfahren besteht darin, die Pentosane durch Destillation mit Salzsäure in Furfurol überzuführen und im Destillat das Furfurol mit Phloroglucin zu condensieren. Phloroglucin reagiert mit Furfurol nach der Gleichung:

$$C_6 H_6 O_3 + C_5 H_4 O_2 = C_{11} H_6 O_3 + 2 H_2 O.$$

Der Phloroglucidniederschlag wird auf einem gewogenen Goochtigel gesammelt, bei 100° 4 Stunden lang getrocknet und in einem verschlossenen Wägegläschen gewogen, da dieses Phloroglucid sehr hygroskopisch ist. Aus einer Tabelle werden die Umrechnungszahlen entnommen und zunächst durch Division des Gewichtes durch 1,84 (im Mittel) bei grösseren Mengen Niederschlag 1,93 die Menge Furfurol erhalten. Der Furfurolwert vermindert um 0,0104 mit 1,88 multipliziert ergibt den Pentosangehalt. Die Bestimmungen lieferten einen mittleren Pentosangehalt von 20,01 % in der Trockensubstanz.

Somit besteht der fünfte Teil dieser Spelzen aus Pentosanen, was eben in der strohartigen Beschaffenheit der Spelze begründet ist. Der durch das Schälen verursachte Pentosaneabgang beträgt demnach 0,3 %, was bei einem Gesamtpentosangehalt der Gerste von 8 % (nach Tollens) auch kaum ins Gewicht fällt.

4. Die Fettbestimmung wurde im Soxhlet'schen Apparat durch Extraktion mit Äther ausgeführt und ergab 2,11 % bezogen auf Trockensubstanz. Die Abnahme an Fett durch das Schälen beträgt daher nur 0,03 %. Die intakte Gerste weist einen durchschnittlichen Fettgehalt von 2,5 % auf.

Auf eine Beobachtung, auf die noch ausführlicher beim Kapitel „Ätherextrakt" zurückgekommen wird, soll einstweilen hingewiesen sein. Das Spelzenrohfett unterscheidet sich in Farbe und Konsistenz vom Gerstenrohfett. Spelzenrohfett hat eine ausgesprochene tiefgrüne Farbe, während Gerstenrohfett eine mehr gelb-gelbbraune Färbung zeigt. Gerstenrohfett ist bei gewöhnlicher Temperatur flüssig bis dickflüssig, während Spelzenrohfett pastenartig bis fest ist.

5. Die Rohfaserbestimmung wurde nach der etwas modifizierten Weender'schen[2]) Methode ausgeführt. Zum Absaugen der Flüssigkeitsmengen wurde kein gewöhnlicher mit Filtrier-

[1]) Z. f. d. ges. Brauwesen 1898, 413.

[2]) Wein agr. chem. Analyse[2]

papier überspannter Glastrichter benutzt, sondern ein zweckmässig geformtes Glasröhrchen.

Dieses Rohr hat auf einer Seite eine kreisrunde kelchförmige Erweiterung, in die als Filterapparat zwei perforierte Porzellanscheibchen, in deren Mitte als eigentliches Filter Papier bezw. Wolle gelegt wird, von einem runden Gummiüberwurf fest zusammengehalten, eingedrückt werden. Der Gummi dient ausser zum gegenseitigen Anpressen der Porzellanscheibchen, auch zum Abdichten gegen den Glaskelch. Wenn sowohl die Scheibchen, wie der Glaskelch genau zentriert sind, funktioniert die Vorrichtung sehr gut.

Nach dieser Methode wurden gut übereinstimmende Werte gefunden. Im Mittel betragen sie 22,62% der Trockensubstanz. Durch die Schälung der Gerste wird also ein Abgang von 0,34% an Rohfaser bewirkt. Der Rohfasergehalt der Gerste beträgt im Mittel 5%.

6. Stärkebestimmung. Das Vorkommen von Stärke in diesen Spelzen ist wohl lediglich auf verletzte, gebrochene Körner zurückzuführen, da durch die Operation des Schälens der Mehlkörper nicht angegriffen wird:

a) auf polarimetrischem Wege nach C. J. Lintner-Belschner[1]) ermittelt, schwankten die Werte zwischen 7—8%.

Bei dem verhältnismässig geringen Gehalt an Stärke und dem hohen Gehalt an anderen Polysacchariden erschien es zweckmässig den polarimetrischen Stärkewert durch ein anderes Verfahren zu kontrollieren.

b) Bestimmung der Stärke nach vorhergehender Verkleisterung, Verzuckerung mittels Diastaselösung und darauffolgender Inversion mit Salzsäure.

Zur Bestimmung wurden 10 g Substanz mit 25 ccm Wasser in einem Nickelbecher, wie er zur Malzanalyse verwendet wird, im kochenden Wasserbad während 20 Minuten verkleistert. Hierauf wurde auf 65° C. abgekühlt und 5 ccm einer Diastaselösung (1 : 5) zugegeben. 20 Minuten wurde bei 65° am Wasserbad gemaischt, sodann auf dem Sandbad 10 Min. lang gekocht unter Ersatz des verdampfenden Wassers. Nach dem Abkühlen wurde in einem Meßkolben auf 250 ccm aufgefüllt und filtriert. Vom Filtrat wurden 200 ccm mit 10 ccm Salzsäure vom sp. Gewicht

[2]) Z. f. Nahr- u. Genussmittel 1907. 205.

1,125 im Inversionstopf 3 Stunden lang gekocht. Nach dem Abkühlen und Neutralisieren mit Natronlauge auf 250 ccm aufgefüllt und filtriert. Mit diesem Filtrat wurden die Zuckerbestimmungen ausgeführt. 25 ccm der Lösung wurden mit 60 ccm Fehling'scher Lösung und 60 ccm Wasser im Kasserol 2 Minuten lang gekocht. Das ausgeschiedene Cu_2O wurde durch gewogene Zuckerröhrchen filtriert und als Cu O gewogen. Der Stärkewert ergibt sich aus der errechneten Kupfermenge mit Hilfe des Wein'schen Tabelle.

Die Diastaselösung wurde ebenfalls für sich mit Salzsäure invertiert und die reducierenden Substanzen darinnen auf die gleiche Weise bestimmt. 75 ccm Diastaselösung wurden mit 5 ccm Salzsäure 3 Stunden lang invertiert; nach dem Abkühlen und neutralisieren auf 100 ccm im Meßkölbchen aufgefüllt und filtriert. Vom Filtrat wurden die Stärkebestimmungen gemacht.

α) Berechnung des Stärkewertes der Diastaselösung: Es wurden gefunden im Mittel

in 25 ccm 0,18835 g Stärke
in 100 ccm demnach 0,7534 g „

Letzere sind identisch mit den angewandten 75 ccm. In 100 ccm der Originallösung sind demnach 1.0045 g reduzierende Substanzen als Stärke berechnet. In 5 ccm sind also 0,0502 g enthalten, die bei den folgenden Bestimmungen in Abzug zu bringen sind, um den wahren Stärkewert zu erhalten.

β) Berechnung des Stärkegehaltes des verzuckerten Gemisches:

In 25 ccm wurden im Durchschnitt gefunden
0,07445 g Stärke
in 250 ccm demnach 0,7445 g „

und da diese identisch sind mit den 200 ccm der unverdünnten Lösung, so

in 200 ccm 0,7445 g Stärke.

In 250 ccm der Originallösung oder in 10 g angewandter Substanz sind also enthalten

0,9306 g Stärke
Minus 0,0502 „ der 5 cccm Diastaselösung
0,8804 g „

Dies entspricht einem Stärkegehalt von 9,5 % bezogen auf Trockensubstanz.

100 Teile Gerste verlieren nach diesem Befund durch das Schälen bezw. durch das Beschädigen einzelner Körner 0,14 Teile Stärke.

Um zu untersuchen, inwieweit dieser Stärkewert von 9,5% durch reduzierende aber unvergärbare Substanzen beeinflußt wird, wurde noch eine zweite Art der Stärkebestimmung durchgeführt, welche diesem Momente Rechnung trägt.

c) Stärkebestimmung mit Berücksichtigung des reduzierenden unvergärbaren Anteils.

Diese Bestimmungen wurden in ähnlicher Weise durchgeführt, wie die vorhergehenden. Es wurden wiederum 10 g Substanz mit 25 ccm Wasser im Nickelbecher auf kochendem Wasserbad in 20 Min. verkleistert; hierauf auf 65° abgekühlt und 10 ccm Diastaselösung zugesetzt. Bei 65° wurde 20 Min. lang gemaischt und dann am Sandbad 10 Min. gekocht. Nach dem Abkühlen wurde im Messkolben auf 500 ccm aufgefüllt und filtriert. Das Filtrat wurde nunmehr geteilt und getrennt weiter behandelt. 200 ccm wurden mit Salzsäure invertiert und in gleicherweise wie früher die Zuckerbestimmungen vorgenommen. In gleicherweise wurde auch die Diastaselösung wieder auf ihren Gehalt an reduzierenden Stoffen untersucht.

Die Diastaselösung ergab:

In 25 ccm 0,1435 g reduzierende Stoffe berechnet als Stärke
„ 100 „ 0,574 g „ „ „ „ „

Diese 100 ccm sind identisch mit den angewandten 75 ccm der Originallösung. Demnach sind enthalten in 100 ccm der ursprünglichen Lösung 0,7653 g.

Für die bei den folgenden Bestimmungen zugesetzten 10 ccm sind also 0,0765 g Stärke in Abzug zu bringen.

Das verzuckerte Gemisch ergab:

In 25 ccm 0,0373 g Stärke
„ 250 „ 0,373 g „

Diese 250 ccm entsprechen den angewandten 200 ccm. Somit sind in den 500 ccm oder in 10 g angewandter Substanz:

0,9325 g Stärke insgesamt
Minus 0,0765 „ „ der zugesetzten Diastaselösung
0,856 g „ in 10 g Spelzen.

Hienach beläuft sich der Stärkewert auf 8,56% lufttrocken oder 9,24% bezogen auf Trockensubstanz. Dieser Wert nähert sich gut dem zuerst gefundenen mit 9,5%.

Einer anderen Behandlung wurden die zweiten 200 ccm unterworfen. Nach der Inversion mit Salzsäure, Neutralisation mit Natronlauge wurde im Messkolben auf 250 ccm aufgefüllt und filtriert. Vom Filtrat wurden 200 ccm eingedampft, nochmals völlig neutralisiert, sodann in 70% Alkohol aufgenommen, um das Kochsalz zu entfernen. Das Filtrat vom Kochsalz wurde vom Alkohol befreit, in Wasser aufgenommen und mit Hefe während 24 Stunden im Thermostaten bei 25° vergoren. Die vergorene Flüssigkeit wurde auf 200 ccm aufgefüllt und filtriert. Vom Filtrat dienten wiederum je 25 ccm zur Zuckerbestimmung.

Die Berechnung ergibt folgendes:

In 25 ccm 0,00395 g Stärke
„ 250 „ 0,0395 g „

In 200 ccm der ursprünglichen Lsg. also ebenfalls 0,0395 g und in 500 ccm 0,0987 g. In 10 g der angewandten Substanz sind also 0,0987 g Unvergärbares auf Stärke berechnet.

Die Inversionsbestimmung ohne Vergärung hatte ergeben

0,8560 g Stärke in 10 g Substanz
Minus 0,0987 „ „ unvergärbar
0,7573 g „ vergärbar

Mithin ergibt sich 7,57% lufttrockene vergärbare Substanz oder 8,17% in der Trockensubstanz. Unvergoren blieb demnach 1,07%.

Der Stärkewert 8,17 nähert sich somit dem durch Polarisation gefundenen, der 7—8% betrug. Dieser Wert dürfte demnach der Wahrheit sehr nahe kommen.

7. Veraschung der Substanz. Es wurden zwei Aschebestimmungen durchgeführt. Die erhaltenen Aschen wurden sodann noch auf Kieselsäure und Phosphorsäure untersucht. Für letztere Bestimmung wurde die von Lorenz[1]) angegebene gewählt. Diese Methode empfiehlt sich zur Phosphorsäurebestimmung in der Asche von Getreide, Mehlen etc. Das Prinzip beruht im wesentlichen in der Fällung der in der Asche vorhandenen Phosphorsäure durch Sulfat-Molybdänreagens und wägen des Niederschlags nach vorhergegangener Trocknung durch Äther. Die Aschelösung wird in der Weise hergestellt, dass die von 3—5 g Substanz herrührende Asche in Salpetersäure gelöst wird. Hierauf spült man die Lösung quantitativ

[1]) Landwirtschaftl. Versuchst. 1901. 183.

in 100 ccm Kölbchen, füllt bis zur Marke mit Wasser auf, schüttelt gut durch und filtriert. Zur Phosphorsäurebestimmung verwendet man 30 ccm des Filtrates. Für die Ausführung der Bestimmung gelten besondere Vorschriften. Besonderes Augenmerk hat man auf die Präparierung der Goochtigel speziell der Filtrierpapierscheibchen zu richten, da sonst der Niederschlag beim Absaugen mit durchgerissen wird. In neuerer Zeit kommen Tigel in den Handel, die einen Boden aus feinverteiltem gepresstem Platin haben und sich vorzüglich zum Absaugen derartiger Niederschläge eignen.

Die einzelnen Bestimmungen ergaben folgende Werte:

Bezogen auf Trockensubstanz:

Veraschung	I	II	Mittel
Asche	9,55 %	9,99 %	9,77 %
SiO_2	7,11 „	6,85 „	6,98 „
P_2O_5	0,57 „	0,56 „	0,565 „

Bezogen auf Asche:

SiO_2	74,4 „	68,6 „	71,— „
P_2O_5	5,87 „	5,97 „	5,92 „

Die Kieselsäure macht wie man sieht den grössten Teil der Asche aus. Der Rest mit ca. 23 % dürfte hauptsächlich auf Ca O entfallen. Leider wurde versäumt die Kalkbestimmung auszuführen. Es wäre nämlich interessant gewesen, die von E. Schulze und Ch. Godet[1]) gemachte Beobachtung, dass in den Spelzen der Samen der Ca O - Gehalt stets grösser ist als der Mg O - Gehalt, während im geschälten Endosperm die Sache gerade umgekehrt liegt, auch an den Gerstenspelzen bestätigt zu sehen.

Zum Vergleich mit Gerste seien auch die diesbezüglichen Durchschnittswerte erwähnt.

Gerste enthält Asche 2,5 %
P_2O_5 35,— % bez. auf Asche
SiO_2 26,— % „ „ „

Sowohl Aschegehalt wie Phosphorsäure- und Kieselsäure-Gehalt der Gerste wird durch das Schälen unmerklich verändert.

So die Asche nur um 0,15 %
P_2O_5 nur um 0,008 %
und SiO_2 nur um 0,105 %

[1]) Hoppe Seyler Z. f. physiolog. Chemie LVIII. 157.

Zum Schlusse möge noch eine Zusammenfassung der mittleren chemischen Zusammensetzung von Gerste nach Lintner[1]) und den untersuchten Spelzen folgen:

	Gerste	Spelzen
Wasser	14,5	7,4
Protëin	9,5	7,1
Stärke	54,—	9,4
Rohfett	2,5	2,1
Rohfaser	5,—	22,6
Asche	2,5	10,—
Pentosane	9,—	20,—
N.-freie Extraktstoffe	3,—	21,4
	100,—	100,—

Der Wert, der sich nach dieser Zusammenstellung für die stickstofffreien Extraktstoffe der Spelzen lediglich durch die Differenz auf 100 ergibt, erscheint sehr hoch. Begründet könnte diese Differenz in erster Linie werden in einem beträchtlichen Staubanteil in den Spelzen. Ferner aber auch könnten Hexosane vermutet werden, die sich der Bestimmung entzogen. Wie später noch dargethan wird, befindet sich tatsächlich in der Spelze eine Hexose, der zyklische Inosit.

II. Der ätherische Extrakt.

5 kg Spelzen wurden durch mehrtägiges Stehenlassen in grossen Glasflaschen und öfteres Umschütteln mit Äther extrahiert. Zur Erhöhung der Ausbeute wurden die Spelzen noch einer zweiten solchen Extraktion unterworfen. Während der Gehalt der Spelzen an Rohfett laut Analyse 2,1 % beträgt, konnte durch diese einfache Extraktion nur 1,2 % erhalten werden. Die Extraktionsflüssigkeit stellte nach dem Filtrieren eine klare hellgrünlichgelbe Lösung dar. Der Äther wurde am Wasserbad abdestilliert. Als Rückstand blieb eine tiefdunkelgrün gefärbte Masse, die nach dem Erkalten griesig pastenartig erhärtete. Der Schmelzpunkt dieses Rohfettes lag bei 45—47 °. Das Produkt hat einen typischen aromatischen Geruch und einen kratzenden Geschmack. Beim Verbrennen auf dem Platinblech tritt deutlicher Akroleingeruch auf. Die spärliche Asche gibt Phosphorsäurereaktion. Die Substanz ist völlig löslich in Chloroform,

[1]) Lintner Bierbrauerei.

Benzol, Toluol und Aceton zum Teil löslich in Schwefelkohlenstoff und kaltem Alkohol. In heissem Alkohol löst sich das Rohfett vollständig. Nach verschiedenen orientierenden Vorversuchen erschien als der beste Weg die Substanz zu zerlegen, der, das Rohfett in heissem Alkohol zu lösen, hierauf erkalten zu lassen, wobei eine weisse kristallinische Ausscheidung erfolgte. Die Substanz wurde daher in 96% Alkohol am kochenden Wasserbad gelöst. Ein kleiner Teil blieb ungelöst, der auf einem Heisswassertrichter abfiltriert wurde. Der Rückstand stellte eine harzige, schmierige, gelbbraune Masse dar. Beim Erkalten des alkoholischen Filtrates erfolgte eine weisse kristallinische Ausscheidung, die an ein Wachs erinnerte. Ausserdem schied sich am Boden des Gefässes ein brauner, fester Kuchen ab. Um das vermutliche weisse Wachs rein zu erhalten, wurde die in der Kälte erfolgte Ausscheidung abgenutscht und wiederum in frischem Alkohol derselben Behandlung unterzogen. Durch öfteres Lösen und Erstarrenlassen gelang es auch endlich einen rein weiss aussehenden Körper zu erhalten. Eigentümlich war, dass nach jeder Lösung in heissem Alkohol regelmässig sich wieder ein brauner Kuchen beim Erkalten abschied. Die Trennung konnte sehr leicht bewerkstelligt werden, da der Kuchen fest am Boden des Kolbens haftete, während die Kristallmassse lose darauf lag. Unter dem Mikroskop waren in der ausgeschiedenen weissen Masse immer noch verschiedene Bestandteile zu erkennen. So grünlichgelb gefärbte Kügelchen mit stacheliger Oberfläche, ferner blumenartige Gebilde mit einem leicht gelbbraun gefärbten Zentrum, von dem Strahlenartig feine Fäden ausgingen. Es wurde daher nochmals versucht, ob man nicht doch durch noch öfteres Lösen und Erstarrenlassen zu einer einheitlichen Kristallisation gelangen könne

Noch 6—8 mal wurde aus Alkohol umkristallisiert. Zum Schlusse konnte doch unter dem Mikroskop eine einheitliche Kristallisation konstatiert werden. Die Kristalle sind mit distelartigen Gebilden zu vergleichen. Auch bei diesen letzten Kristallisationen wurde wieder die Ausscheidung des gelben Kuchens am Boden des Glaskolbens beobachtet. Je öfters umkristallisiert wurde, desto geringer war die gewonnene Kristallmenge. Die gesammelten gelbbraunen, kuchenartigen Ausscheidungen wurden nun für sich wieder in heissem Alkohol gelöst. Dabei wurde beobachtet, dass am Boden des Kolbens eine etwas stärker

gefärbte klare Schicht sich bildete, die von dem darüber befindlichen Alkohol deutlich zu unterscheiden war. Es scheint demnach, dass die Substanz sich nicht ganz in dem heissen Alkohol löst und zu geringem Teil geschmolzen sich darin befindet. Dieser geschmolzene Anteil gibt dann offenbar die kuchenartige Ausscheidung.

Bei einer später nochmals erfolgten Reindarstellung des Wachses konnte ebenfalls beobachtet werden, dass am Boden des Rundkolbens, in welchem die Lösung vorgenommen wurde, unter dem Alkohol eine schwere ölartige, braungefärbte, klare Masse schwamm, die nicht in dem heissen Alkohol zur Lösung zu bringen war. Durch vorsichtiges Abgiessen der heissen alkoholischen Lösung des Wachses konnte man eine Trennung von dem schwereren, geschmolzenen Produkt vornehmen. Das letztere erstarrte beim Erkalten rasch zu einer festen Masse.

Das erste Rohwachspräparat wurde dargestellt, ohne dass die braunen Ausscheidungen entfernt wurden und ohne Entfärbung mit Tierkohle Dieses Produkt war leicht gelbbraun gefärbt, ziemlich hart und zeigte einen Schmelzpunkt von 68 bis 68,5°. Das sp. Gew. betrug 0,987 bei 15°. Die weiteren Untersuchungen ergaben:

Säurezahl . .	22,7
Esterzahl . .	40,5
Verseifungszahl	63,2
Jodzahl . . .	25,6

Das verseifte Gemisch wurde sodann in Unverseifbares und die Fettsäuren zu trennen versucht. Bei Wachsen ist eine Trennung mittels Lösungsmittels sehr schwierig, da sowohl die Alkohole in kalten Lösungsmitteln schwer löslich sind, als auch die Alkaliseifen der in den Wachsen enthaltenen Fettsäuren in Wasser wie auch verdünnten Alkohol nicht leicht löslich sind. In diesem Falle ist es vorzuziehen, wasserunlösliche Seifen darzustellen, indem man das verseifte Gemisch genau mit Essigsäure neutralisiert und mit Bleiacetat fällt. Der Niederschlag wird ausgewaschen, getrocknet, mit Sand vermengt und wiederholt mit Petroläther im Soxhlet extrahiert. Dabei geht das Unverseifte in Lösung. Der Rückstand auf dem Filter enthält die Bleiseifen. Diese werden nach der Bleisalzäthermethode getrennt, welche darauf beruht, dass die Bleisalze der flüssigen (ungesättigten) Fettsäuren sich in warmen Äther lösen, die der

festen Fettsäuren dagegen nicht. Nach dieser Methode wurde das verseifte Gemisch verarbeitet, aber keine einwandfreien Resultate erhalten. So zeigte der Schmelzpunkt der ätherlöslichen, angeblich flüssigen Fettsäuren 63°, derjenige der festen ätherunlöslichen 45—46°. Der Schmelzpunkt des Unverseifbaren lag bei 49—50°, was dem Schmelzpunkt des Cetylalkohols sehr nahe kommt. Das Unverseifbare zeigte beim Behandeln mit Essigsäureanhydrit eine ölige Ausscheidung und keine vollständige Lösung, was nach Lewkowitsch auf Kohlenwasserstoffe schliessen lässt. Diese Lösung gab auch Liebermanns Cholesterolreaktion, indem auf Zusatz von konz. Schwefelsäure Grünfärbung eintrat.

Die zuerst dargestellten Wachse zeigten mehr oder minder noch eine Färbung ins gelbliche bis gelbbraune. Es wurde daher versucht, den Farbstoff mit Hilfe von Tierkohle zu entfernen. Das Wachs wurde in heissem Alkohol gelöst, von der schweren, geschmolzenen Schicht durch dekantieren getrennt und hierauf einige Zeit am Rückflusskühler gekocht und heiss filtriert. Nachdem diese Behandlung 2—3 mal wiederholt war, konnte ein rein weisses Produkt erhalten werden.

Dieses gereinigte Wachs hatte einen Schmelzpunkt von 67,5°. Erweichen trat schon bei 58° ein. Das sp. Gewicht betrug 0,977 bei 15°.

Die weitere Untersuchung lieferte folgende Werte:

	I	II
Säurezahl . .	22,—	20,7
Esterzahl . .	59,6	57,—
Verseifungszahl	81,6	77,7

Allem Anscheine nach haben wir es hier tatsächlich mit einem Wachse zu tun. Die erhaltenen Zahlen lassen sich gut in Einklang bringen mit denen anderer Wachse.

Zum Vergleich seien die entsprechenden Durchschnittszahlen des Bienenwachses erwähnt:

Schmelzpunkt . .	63°—70°
Säurezahl	16,8°—21°
Esterzahl	73°—77°
Verseifungszahl . .	90°—98°
sp. Gewicht bei 15°	0,959—0,975

Durch das Behandeln mit heissem Alkohol ist das Rohfett zunächst in zwei Teile zerlegt worden. Von dem einen Teil,

dem Wachs ist bereits gesprochen. Es erübrigt somit noch auf die Filtrate vom Wachs, den anderen Teil, zurückzukommen. Die verschiedenen Filtrate wurden durch Destillation vom Alkohol befreit. Es hinterblieb ein tiefdunkelgrün gefärbtes Fett, das eine Konsistenz ähnlich derjenigen der Schmierseife zeigte. Dieses Fett wurde verseift und zwar, vor wie nach der Behandlung mit Tierkohle. Vor der Behandlung mit Tierkohle ergaben sich:

Schmelzpunkt . .	18—19°
sp. Gewicht (15°) .	0,928
Verseifungszahl .	158,— (wahrscheinlich nicht ganz verseift)
Jodzahl	76.—

Nach der Entfärbung mit Tierkohle ergaben sich folgende Werte:

Schmelzpunkt . .	19°
sp. Gewicht . . .	0,926
Verseifungszahl . .	192,—
Jodzahl	65,—

Diese Zahlen charakterisieren die Substanz tatsächlich als ein Fett (nicht trocknendes Öl). Die erhaltenen Werte stehen denen anderer vegetabilischer Fette sehr nahe, speziell auch die Jodzahl.

Zum Vergleich mit einem Gerstenrohfett seien die Resultate Wallensteins[1]) erwähnt.

Er fand: Verseifungszahl .	182,1
Jodzahl	114.—

Man sieht daraus, dass die Verseifungszahl des Gerstenrohfettes sich der, des aus den Spelzen isolierten Fettes nähert. Aus der Jodzahl erhellt, dass das Gerstenfett mehr ungesättigte (flüssige) Fettsäuren enthält, als das Spelzenfett, was auch schon rein äusserlich an der Konsistenz zu erkennen ist.

An den Schmelzpunkt des Spelzenrohfettes lässt sich noch eine weitere Betrachtung knüpfen. Dieser liegt für das Spelzenrohfett ziemlich hoch, nämlich bei 45—47°. Gerstenfett schmilzt nach Stellwaag[2]) bei 13°. Diese Erhöhung des Schmelzpunktes beim Spelzenfett kann mit Bestimmtheit in dem verhältnismässig grossen Gehalt an Wachs begründet werden. Dieses hat eben seinen Sitz in der Spelze, wo es die Rolle eines Schutzmittels

[1]) Forschungsberichte 1896. 372.

[2]) Inauguraldissertation Leipzig 1889.

für das Korn spielt, in erster Linie die, dem Samen das nötige Vegetationswasser zu erhalten.

Was endlich die grüne Farbe anlangt, die sowohl dem Fett wie Wachs anhaftete, so dürfte sie wahrscheinlich auf Chlorophyll zurückzuführen sein. Chlorophyll wird von Fett absorbiert[1]). Durch öfteres Lösen in Alkohol, beziehungsweise durch Behandlung mit Tierkohle konnte die grüne Farbe beseitigt werden, beides Mittel, die auf Chlorophyll ebenso wirken. Man kann demnach zu der Annahme gelangen, dass in den Spelzen noch Chlorophyll sitzt und dieses dem daraus extrahierten Fett seine tiefgrüne Farbe verleiht. Das entfärbte (mit Tierkohle) Spelzenfett ist gelbbraun, das Gerstenrohfett ist ebenfalls braun, weil eben hier der geringe Spelzenanteil als grünfärbender Bestandteil im Hintergrunde steht.

III. Der alkoholische Extrakt.

Die bereits mit Äther extrahierten Spelzen wurden nunmehr einer Extraktion mit 70% Alkohol unterzogen. Es wurde ebenso wie bei der vorhergehenden Extraktion verfahren, nur dass die Spelzen noch auf einer Presse vollständig ausgepresst wurden. Die alkoholischen Extraktionen wurden nach dem Filtrieren im Vakuum destilliert. Als Rückstand blieb teils eine wässrige tiefdunkelbraune Lösung, teils hatte sich am Boden des zur Vakuumdestillation benützten Emailletopfes eine dicke, braune Schmiere abgesetzt. In dieser Extraktion wurde der Gerstengerbstoff erwartet, von dem bereits Seyffert[2]) berichtet. Seine Angaben wurden berücksichtigt, um diesem Körper näher zu kommen.

Dieser alkoholische Extrakt wurde wieder in drei Fraktionen zerlegt und zwar:

a) einen Ätherextrakt
b) einen wässrigen Extrakt
c) einen Alkoholextrakt.

ad a) Der ätherische Extrakt wurde gewonnen, sowohl aus dem wässrigen Anteil, als aus dem schmierigen Bodensatz des Destillationsrückstandes durch Verreiben mit Äther in Reibschale mit Pistill. Die gesammelten ätherischen Lösungen wurden

[1]) Euler, Pflanzenchemie I 1908.
[2]) Wochenschrift f. Brauerei 1904, 483. 1906, 545.

durch Destillation vom Äther befreit. Als Rückstand blieb eine dunkelbraune, dickflüssige Masse von aromatischem, süsslichem Geruch. Nach dem Veraschen gab die Substanz deutliche Phosphorsäurereaktion.

Bei der Vakuumdestillation des alkoholischen Extraktes wurde bemerkt, dass gegen Ende der Destillation, als bereits Wasser mit überging, ein charakterischer, starker Geruch in dem Destillat wahrzunehmen war. Es schien also mit dem Wasserdampf etwas flüchtig gewesen zu sein. Um der Ursache dieses eigentümlichen Geruches auf die Spur zu kommen, wurde der ätherische Extraktionsrückstand einer Destillation mit Wasserdampf unterworfen. Das Destillat war durch weisse Ausscheidungen trübe und zeigte einen eigenartigen, muffigen Geruch. Durch Ausschütteln mit Äther konnte daraus eine kleine Menge eines ätherischen Öles gewonnen werden. Dieses hat einen angenehmen, äusserst starken, honigartigen Geruch. Sowohl der erste ätherische, wie der alkoholische Extrakt waren durch den gleichen Geruch ausgezeichnet. Das Öl ist äusserst leicht flüchtig, selbst bei gewöhnlicher Temperatur. Es zeigt dunkelgoldgelbe Farbe. Zwei kleine Proben wurden in zugeschmolzenen Glasröhren aufgehoben. Um zu erfahren, ob etwa dieses ätherische Öl an der Aromabildung beim Darrprozess beteiligt sei, wurde ein solches Glasröhrchen einer mehrstündigen Temperaturerhöhung bis zu 100° ausgesetzt. Äusserlich war zu konstatieren, dass das Öl durch die Erhitzung bedeutend dunkler und trübe geworden ist. Der Geruch war stärker geworden, erinnerte aber noch an den ursprünglichen. Mit dem Malzaroma konnte er jedoch durch diesen Versuch nicht in Beziehung gebracht werden.

Die Spelzen für sich mit Wasserdampf destilliert lieferten ebenfalls das ätherische Öl.

Die nach der Wasserdampfdestillation erhaltene Emulsion wurde wieder mit Äther extrahiert. Auf Zusatz von Kochsalz schied sich die Emulsion glatt. Der wiedergewonnene Ätherextrakt zeigte noch den ungemein bitteren Geschmack.

Vorversuche ergaben, dass die alkoholische Lösung dieses Ätherextraktes eine Fällung mit alkoholischem Bleizucker gab. Es wurde daher das Bleisalz auf diese Weise hergestellt. Um die Fällung von anhaftendem Fett zu befreien, wurde sie im Soxhlet'schen Apparat extrahiert. Die Zerlegung des Bleisalzes

wurde mit Essigsäure und Äther vorgenommen. Die ätherische Lösung wurde nach dem Waschen mit Wasser eingedampft. Da der Rückstand noch nicht frei von Essigsäure war, wurde er nochmals in Äther gelöst und des öfteren mit Wasser gewaschen. Nach abermaligem Verdampfen des Äthers, hinterblieb eine braune, bröckelige, fettige Masse. Am Platinblech verbrannte die Substanz vollständig. Phosphorsäure- und Stickstoffreaktion fielen negativ aus. Unter den verschiedenen Lösungsmitteln erschien Aceton das beste zu sein, worin die Substanz bis auf einen geringen Anteil löslich war. Zwecks Reinigung und Entfärbung wurde das Produkt in Aceton unter Zusatz von Tierkohle gelöst. Nach dem Filtrieren und Verjagen des Lösungsmittels blieb als Rückstand eine leicht gelb gefärbte, wachsartige Masse, die kristallinisch erstarrte und einen Schmelzpunkt von 56—57° ergab. Den gleichen Schmelzpunkt gibt Wallerstein[1]) für die von ihm gefundenen höheren Fettsäueren an, die er als ein Palmitin-Stearinsäuregemisch erkannt hat.

Das Filtrat von dem Bleisalz wurde nach dem Abdestillieren des Alkohols ebenfalls mit Essigsäure und Äther behandelt. Die ätherische Lösung wurde ebenfalls zur Entfernung der Essigsäure des öfteren mit Wasser gewaschen und filtriert. Nach dem Verdampfen des Äthers hinterblieb ein dunkelgrün-braun gefärbtes flüssiges Öl, das selbst nach monatelangem Liegen im Exsikkator diese Konsistenz beibehielt. Mit diesem Öl, dessen Menge sehr gering war, wurden zwei Verseifungen vorgenommen, die folgende Werte ergaben:

	I	II
Säurezahl	46,4	48,7
Esterzahl	111,8	113,5
Verseifungszahl . .	158,2	162,2
Jodzahl	52,2	55,5

Diese Zahlen zeigen, dass man die Substanz als ein Fett oder Öl ansprechen darf.

b) Der wässrige Extrakt wurde durch Behandeln der Rückstände von dem im vorhergehenden besprochenen ätherischen Extrakt gewonnen. Die zähen, schmierigen Anteile mussten durch Verreiben mittels Pistill in Wasser extrahiert werden. Diese Extraktion stellt eine tiefdunkelbraune Lösung dar, die

[1]) Forschungsberichte 1896, 382.

deutliche Gerbstoffreaktion gibt. Nach den Angaben Seyfferts[1]) wurde dieser Teil mit Bleiessig gefällt bis keine Reaktion mit Eisenchlorid und kein Niederschlag mit Bleiessig mehr eintrat. Nachdem die Fällung gut abgesetzt war, wurde die überstehende klare Lösung dekantiert und der Niederschlag abgenutscht und gewaschen. Um die Bleifällung zu zerlegen, wurde diese in der Reibschale mit Wasser fein zerrieben und sodann einer ca. 10 stündigen Behandlung mit Schwefelwasserstoff unterworfen. Das Bleisulfid wurde abgenutscht, nochmals mit Wasser verrieben und einer zweiten Nachbehandlung mit Schwefelwasserstoff unterzogen. Beide Filtrate wurden vereinigt und auf dem Wasserbad unter zeitweiligem Wasserersatz nach Möglichkeit vom Schwefelwasserstoff befreit. Beim Einengen hatte sich wieder Bleisulfid abgeschieden, das abfiltriert wurde. Ferner war auch noch eine Phlobaphenbildung zu beobachten. Trotz öfteren Filtrierens blieb die Lösung opaleszierend. Behufs Fällung und Abscheidung des vermutlichen Gerbstoffs wurde das Filtrat in ein Alkohol-Äthergemisch (3:1) unter ständigem Umrühren ausgegossen. Über Nacht hatte sich der entstandene flockige, lichtbräunliche Niederschlag gut abgesetzt. Dieser wurde abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und sodann getrocknet. Die Fällung stellte so eine amorphe, leicht zerreibliche Substanz von hellgraubrauner Farbe dar. Sie war unlöslich in Alkohol und auch Wasser. Da Gerbstoffe wasserlöslich sind, so haben wir es hier nicht mit einem solchen zu tun. Beim Verbrennen auf dem Platinblech zeigte sich anfangs grosse Volumvermehrung, plötzliches Verbrennen, wobei ein Geruch nach verbranntem Gummi auftraf. Letztere Beobachtung hatte auch Seyffert bei seinem Körper gemacht.

Im späteren Verlauf dieser Arbeit wurde beobachtet, dass den phosphororganischen Verbindungen ein besonderes Augenmerk zuzuwenden ist. Deshalb wurde die eben erwähnte alkoholische Fällung auch auf Phosphorsäure geprüft und zwar mit positivem Erfolg. Die Substanz ähnelt auch in ihrem sonstigen Verhalten sehr dem später behandelten Phytin. So zum Beispiel in der Löslichkeit. Wie Phytin ist sie unlöslich oder schwerlöslich in Wasser, dagegen leichtlöslich in verdünnten Säuren. Ferner gibt die Asche eine stärkere Phosphorsäurereaktion als die salpetersaure Lösung, was eben auf die

[1]) Wochenschrift f. Brauerei 1904, 1906.

Anwesenheit einer komplexen Verbindung hinweist. Des weiteren ist Phytin ebenfalls durch Alkohol fällbar.

Das Filtrat von der Alkohol-Ätherfällung wurde zunächst durch Destillation, später am Wasserbad eingeengt. Da dieser Anteil noch Bleireaktion gab, wurde nochmals Schwefelwasserstoff eingeleitet und mit Essigsäure angesäuert. Die vom Bleisulfid filtrierte Lösung wurde wieder am Wasserbad unter öfterem Wassersusatz eingedampft. Die eingeengte wässrige Lösung wurde in Alkohol aufgenommen, vom ungelösten filtriert und am Wasserbad zur Trockne verdampft. Als Rückstand blieb eine tiefdunkelbraune, zähe Masse mit bitterem, adstringierenden Geschmack. Auch haftete dem Körper die Schwefelwasserstoffbehandlung noch deutlich an.

Mit dieser Substanz wurden verschiedene Versuche angestellt. In Wasser ist sie teilweise löslich. Die wässrige Lösung gibt deutliche Gerbstoffreaktion, sowohl mit Eisenchlorid als Goldchlorid. In Essigäther ist die Substanz teilweise löslich, doch zeigte der filtrierte und abgedampfte Essigätherauszug nach dem Aufnehmen in Wasser keine Gerbstoffreaktion mehr. Versuche mit Tierkohle zu entfärben, zeigten, dass diese den Gerbstoff wegnimmt. Zwecks weiterer Trennung wurde der Körper in einen wasserlöslichen und alkohollöslichen Anteil getrennt. Beide Teile wurden am Wasserbad abgedampft und im Exsikkator vollständig getrocknet.

Der wasserlösliche Anteil ist sehr hygroskopisch. Er reduziert sowohl Fehling'sche Lösung als Goldchloridlösung und gibt starke Furfurolreaktion. Mit α Naphtol tritt nur eine rotviolette, keine ausgesprochen blaue Färbung wie bei Kohlehydraten ein. Versuche ein Osazon zu erhalten, blieben resultatlos. Eine Veraschung hinterliess eine rotbraungefärbte Asche, die Eisenreaktion aber keine Phosphorsäurereaktion gab.

Der alkohollösliche Teil wurde im Exsikkator vollkommen fest. Er besitzt tiefdunkelbraune Farbe und ist zum Unterschied von dem wasserlöslichen Anteil nicht hygroskopisch. In kaltem Wasser ist er unlöslich, in kochendem löst er sich teilweise, um sich beim Erkalten wieder flockig auszuscheiden. In heissem Brunnenwasser geht mehr in Lösung und bleibt auch beim Abkühlen gelöst. Erst auf Zusatz von Salzsäure fällt der Körper wieder flockig aus. In Äther ist nur äusserst wenig löslich. In Kalilauge löst sich die Substanz und zeigt einen eigenartigen

Geruch beim Kochen. Den gleichen Geruch kann man beobachten, wenn man Bier mit Kalilauge versetzt. Da in der vorliegenden Substanz ein Harz vermutet werden konnte, so wurden einige Verseifungen vorgenommen. Diese zeitigten jedoch abnorm hohe Zahlen, die wohl auf das Konto der zugesetzten Essigsäure, die Esterbildung verursacht hat, zu setzen sein wird. Bei einem Versuch die Essigsäure durch Destillation unter vermindertem Druck zu entfernen, ging auch tatsächlich keine Essigsäure, wohl aber ein esterartiger Körper über, der sich mit Äther ausschütteln liess.

c) Der alkoholische Extrakt wurde erhalten aus den Rückständen, die sowohl in Äther, als in Wasser unlöslich waren. Die in der Reibschale mit Äther und Wasser behandelte, zähe, fadenziehende Masse wurde getrocknet und stellte so ein hartes, sprödes, dunkelbraunes Produkt dar. Die Stickstoffbestimmung ergab:

7,5 % N oder 47,— % Protëin.

Die Vermutung, dass man es hier zum Teil mit Eiweisskörpern zu tun habe, erhielt dadurch eine Bestätigung. Um möglichst wenig Eiweissubstanzen zu lösen, wurde mit 85 % Alkohol extrahiert. Die Extraktion erfolgte zunächst in der Kälte, doch benötigte das äusserst zähe Produkt zwecks vollkommener Extraktion längeres kochen am Wasserbad mit Rückflusskühler. Die heissgewonnenen Extrakte trübten sich wieder beim Erkalten. Die kaltfiltrierten Auszüge wurden vereinigt und stellten eine tiefdunkelrotbraune Lösung dar. Der extrahierte Rückstand wurde abermals getrocknet und zur Stickstoffbestimmung verwendet. Diese ergab:

9,5 % N oder 59,5 % Protëin.

Der Rückstand hatte demnach durch die Extraktionen mit 85 % Alkohol eine Anreicherung an Stickstoff erfahren.

Wie bei dem wässrigen Anteil beim Stehen an der Luft eine Trübung und Ausscheidung zu konstatieren war, die auf der Oxydation des Gerbstoffes (Phlobaphenbildung) beruhte, so trübten sich auch diese alkoholischen Lösungen beim Stehen ganz in der gleichen Weise. Dieser alkoholische Anteil wurde ebenso wie der wässrige mit Bleiessig gefällt, und der Bleiniederschlag mit Schwefelwasserstoff in alkoholischer Lösung zerlegt und von Bleisulfid getrennt. Das Filtrat wurde auf ein kleines Volumen eingeengt und mit 96 % Alkohol aufgenommen,

filtriert und nach den Angaben Seyffert's in die 6fache Menge Äther unter umrühren ausgegossen. Dabei schied sich ein gelbbraun gefärbter, flockiger Niederschlag ab, der sich rasch zu Boden setzte. Diese Fällung wurde abfiltriert und mit Äther nachgewaschen. Beim Stehen an der Luft verflüssigte sich aber dieser Niederschlag zu einer braunen Schmiere, die teilweise wiederum durchs Filter lief. Es musste daher versucht werden, auf andere Weise zum Ziele zu kommen. Die zerflossene Ätherfällung wurde wieder in Alkohol gelöst und vorsichtig zur Trockne verdampft. Es hinterblieb eine spröde, schellackähnliche Masse, die nach dem Verreiben ein dunkelbraunes Pulver bildete. Einen ausgesprochenen Geschmack hatte dasselbe nicht, nur die Schwefelwasserstoffbehandlung war noch deutlich wahrzunehmen. Die Substanz gibt keine Gerbstoffreaktion. Sie löst sich glatt in Natronlauge, woraus sie auf Zusatz von Säure wieder in braunen Flocken ausfällt. Stickstoff war keiner nachweisbar.

Das Filtrat von der Ätherfällung wurde ebenfalls nach abdestillieren des Äthers zur Trockne verdampft. Dieser Rückstand ähnelt dem eben besprochenen fast durchweg.

Zu diesem Abschnitt muss bemerkt werden, dass es sich bei den einzelnen isolierten Produkten nirgends um grössere Mengen handelte, die zu einer eingehenderen Untersuchung genügt hätten. Dass in diesem Alkoholextrakt sowohl Gerb- wie Bitterstoffe eine besondere Rolle spielen, darin kann man Seyffert beipflichten. Die Methode jedoch, um diesen Körpern näher zu kommen, hat sich wenig bewährt. Vor allen Dingen haben die Bleifällungen mit der nachfolgenden Schwefelwasserstoffbehandlung ihre Schattenseiten, zumal es sich in diesem speziellen Falle um Körper handelt, die als Geschmacksstoffe eine Darstellung wünschenswert erscheinen lassen, die solche sekundäre Geschmacksbeeinflussungen ausschliessen. Durch Anwendung verschiedener Lösungsmittel wäre vermutlich eher ein Resultat zu erzielen. Der Gang, wie er zur Phosphatiddarstellung von Winterstein[1]) und Smolenski[2]) benutzt worden ist, könnte in vielen Punkten als Anhalt dienen, zumal wir es hier auch zum Teil mit ähnlichen Körpern zu tun haben werden. Sowohl im Äther- wie Alkoholextrakt konnte Phosphorsäure nachgewiesen

[1]) Hoppe Seyler Z. f. physiolog. Chemie LIV. 295.
[2]) Hoppe Seyler Z. f. physiolog. Chemie LVIII. 524.

werden. Nach Winterstein sind z. B. beim Weizenmehl eben diese beiden Extrakte zur Phosphatiddarstellung benutzt worden.

IV. Der wässrige Extrakt.

Die mit Äther und Alkohol behandelten Spelzen wurden noch einer Extraktion mit destilliertem Wasser unterzogen. Nach fast achttägigem Stehen unter öfterem Umrühren wurde der Spelzenbrei ausgepresst und der Presssaft filtriert. Die Lösung zeigte einen säuerlichen Geruch, da während der Extraktion bereits Mikroorganismen ihre Tätigkeit begonnen hatten. Das braune, opaleszierende Filtrat wurde zunächst auf dem Wasserbad, später im Vakuum eingeengt. Dabei schieden sich beträchtliche Mengen Eiweisskörper aus, die abfiltriert wurden Das Filtrat gab mit Eisenchlorid einen graugrünen Niederschlag, mit Salzsäure gekocht Furfurolreaktion auf Anilineisessigpapier. Fehling'sche Lösung wurde reduziert.

Versuchsweise wurde ein Teil der wässrigen Lösung in die 3 – 4fache Menge Alkohol gegossen und so eine flockige Fällung erzielt. Mit dieser Probefällung wurden einige orientierende Versuche angestellt. Zunächst wurde auf Stickstoff geprüft, doch war keiner nachzuweisen. Auch beim Verbrennen der Substanz am Platinblech zeigte sich kein hornartiger, wohl aber ein empyreumatischer Geruch. Die Asche gab Phosphorsäure- und Schwefelsäurereaktion. Die in Wasser gelöste Kaliumschmelze zum Stickstoffnachweis entwickelte beim Ansäuern mit Salzsäure auch Schwefelwasserstoff, der mit Bleiazetatpapier nachgewiesen werden konnte. Diese Alkoholfällung liess sich frisch gefällt und mit Äther gewaschen am Tonteller gut abpressen und trocknen. Bei längerem Stehen mit Alkohol wurde sie gummös.

Das Filtrat von der Vakuumdestillation herrührend zeigte eine merkwürdige Eigenschaft. Es wurde nämlich beobachtet, dass in der Hitze eine flockige Ausscheidung entsteht, die sich in der Kälte wieder löst. Diese Eigenschaft erschien als eine willkommene Handhabe den Körper zu trennen. Die Lösung wurde kochend heiss durch einen Heisswassertrichter filtriert und so von dem in der Hitze entstandenen Niederschlag getrennt. Am Platinblech verbrannt, zeigte dieser Körper geringe Mengen organischer Substanz, aber verhältnissmässig viel Asche an.

Letztere gab starke Phosphorsäure-, aber keine Schwefelsäurereaktion. Nach Abscheidung der Phosphorsäure mit Eisen konnten noch beträchtliche Mengen Kalk und Spuren Magnesium nachgewiesen werden. Der durch die Hitze abgeschiedene Niederschlag war unlöslich oder schwerlöslich in Wasser, in verdünnten Säuren dagegen leicht. Auf Zusatz von Ammoniak schied sich die Substanz in weissen Flocken wieder aus. Mit Salzsäure gekocht gibt der Körper Furfurolreaktion. Mit Kalium erhitzt war kein Stickstoff nachweisbar.

Die Hauptmenge des von der Vakuumdestillation herrührenden Filtrates wurde zur Fällung in die 3—4fache Menge Alkohol, dem auch etwas Äther zugesetzt war, unter Umrühren ausgegossen. Der Niederschlag setzte sich rasch zu Boden, wurde sodann abgenutscht und mit Alkohol und Äther nachgewaschen. Nach dem Abpressen auf Tonteller resultierte ein hellbraunes Pulver. Lösungsversuche zeigten, dass es in Wasser teilweise löslich ist. Auch konnte hier wieder die Beobachtung gemacht werden, dass in der wässrigen Lösung beim Erhitzen beträchtliche Ausscheidung erfolgt. Es scheint demnach, dass durch den Alkohol derselbe Körper gefällt wurde, der auch schon in dem ursprünglichen wässrigen Extrakt die Ausscheidung in der Hitze bewirkt hatte. Dieser Körper war schon durch sein eigenartiges Verhalten interessant genug, um ihn näher zu untersuchen.

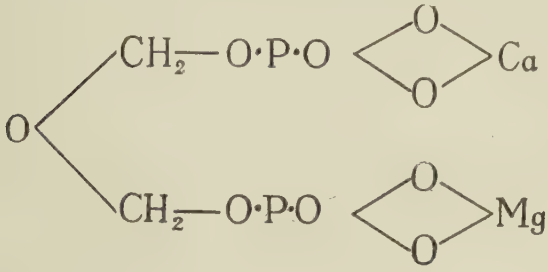
Die alkoholische Fällung wurde deshalb mit Wasser in einer Reibschale verrieben, aufgeschlämmt und filtriert. Das Filtrat wurde zum Kochen erhitzt, der entstandene Niederschlag durch einen Heisswassertrichter filtriert und mit kochend heissem Wasser nachgewasehen. Auf dem Filter blieb der phosphorhaltige Niederschlag mit fast weisser Farbe. Es war nun interessant festzustellen, dass der Körper sich in Wasser nicht löste, wohl aber in seinem ersten Filtrat.

In der Literatur finden wir nun von Palladin[1]) und Winterstein-Schulze[2]) einen phosphorhaltigen Pflanzenbestandteil beschrieben, der in seinen Eigenschaften fast vollständig mit denen des in Frage stehenden Körpers übereinstimmt. Um näheren Aufschluss über seine Natur zu erhalten, wurden zunächst

[1]) Zeitschr. f. physiolog. Chem. 22. 91.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 30. 2299. 1897.

einige Veraschungen zur Bestimmung der organischen Substanz, Phosphorsäure, Kalk und Magnesia unternommen.

Posternack[3]) fasst diese phosphororganische Verbindung als das Ca, Mg Salz der Anhydrooxymetylendiphosphorsäure auf und formuliert sie folgendermassen:



Mol. Gew. 298,36

Dieser Formel entsprechen: P_2O_5 47,6 %
Ca 13,4 %
Mg 8,16 %

Bei einem Präparat, das durch Lösen in verdünnter Essigsäure und ausfällen in der Hitze nochmals besonders gereinigt war, konnten Werte erhalten werden, die an die nach der Posternack'schen Formel berechneten einigermassen herankommen.

Die Analyse ergab: P_2O_5 48,51 %
Ca 10,12 %
Mg 7,94 %

Winterstein gibt für die von ihm analysierte Substanz 42,24 % P_2O_5 und 12,97 Mg O an.

Bei einer zweiten Darstellung dieses Körpers, die im grossen und ganzen ebenso wie die erste vorgenommen wurde, wurde die Abscheidung nicht durch die Hitze bewirkt, sondern auf Zusatz von Ammoniak, nach welchem Verfahren auch Winterstein, Posternak und schon Palladin arbeiteten. Dabei war die Ausbeute besser. Unter dem Mikroskop zeigte diese Fällung jedoch typische Ammoniummagnesiumphosphatkristalle neben kürzeren und längeren Prismen und amorphem Cerinnsel. Da die fragliche organische Phosphorverbindung amorph ist, wurde versucht, die Kristalle nach Möglichkeit von dem Gerinnsel zu trennen, was jedoch nicht glückte. Inwiefern die erste analysierte

[3]) Comptes rendus T CXXXVII 1903.
[3]) Revue générale de Botanique T XII 1900.

Substanz durch anorganische Phosphate verunreinigt war, konnte nicht mehr konstatiert werden, da sie bereits aufgearbeitet war.

Es lag also hier die Vermutung nahe, dass die organische Phosphorverbindung während der wässrigen Extraktion infolge Enzymwirkung gespalten wurde. Um dieser Erscheinung auf den Grund zu kommen, wurde nochmals eine Extraktion unternommen, bei der jede Enzymwirkung ausgeschaltet wurde.

Suzuki und Yoshimura[1]) stellten Phytin aus Reiskleie dar und zwar so, dass sie die zunächst mit Äther, dann mit kochendem Alkohol vorbehandelten Spelzen mit 0,2 % Salzsäure extrahierten. In der salzsauren Lösung fällten sie das Phytin durch Zugabe von abs. Alkohol. Sie erhielten so ein Rohprodukt, das 80 % des Gesammtphosphors repräsentierte.

Nach diesem Verfahren wurde nochmals 1 kg Spelzen verarbeitet. In der 0,2 % Salzsäurelösung wurden die Gerstenspelzen eingeteigt, so dass ein dickflüssiger Brei entstand, und ca. 15 Stunden unter öfterem Umrühren stehen gelassen. Durch auspressen auf einer Presse wurden die Spelzen so gut es eben ging von der Lösung befreit. Der nochmals filtrierte Extrakt betrug gut 3 Liter. Er hatte dunkelgoldgelbe Farbe und war schwach opaleszierend. Ein Teil dieses Filtrates wurde sodann zur Fällung nach dem oben erwähnten Verfahren in das gleiche Volumen absoluten Alkohols unter Umrühren ausgegossen. Es bildete sich dabei ein weisser, flockiger, gelatinöser Niederschlag, der sich rasch zu Boden setzte.

Mit dem anderen Teil des salzsauren Filtrates wurde die Fällung zum Vergleich durch Kochen und filtrieren durch einen Heisswassertrichter vorgenommen. Es fiel in der Hitze ein rein weisser, flockiger Niederschlag aus, der die für Phytin charakteristischen Eigenschaften aufweist. So gibt die salpetersaure Lösung des Körpers keinen Niederschlag mit molybdänsaurem Ammon, während die in Salpetersäure aufgenommene Asche desselben starke Phosphorsäurereaktion anzeigt. Die Substanz ist unlöslich oder schwerlöslich in Wasser, wohl aber löslich in verdünnten Mineralsäuren und in Essigsäure. Aus der verdünnt essigsauren Lösung kann man sie durch Kochen wieder zur Abscheidung bringen oder auf Zusatz von Ammoniak. Unter dem Mikroskop präsentiert sich der Niederschlag als ein voll-

[1]) Bull. Coll. of. Argic. Tokyo 1907.

ständig homogenes, kugeliges Gerinnsel, ohne irgend ein Anzeichen von Kristallisation.

Das Filtrat von der lediglich durch Erhitzen bewirkten Fällung wurde zwecks vollkommener Abscheidung des phytinartigen Körpers mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, zum Kochen erhitzt, durch einen Heisswassertrichter filtriert und mit Wasser nachgewaschen. Unter dem Mikroskop war auch bei dieser zweiten Fällung nur ein einheitliches Gerinnsel und keine Kristalle zu sehen, im Gegensatz zu dem ersten Produkt, das ohne Hintanhaltung von Enzymwirkungen gewonnen war. Äusserlich war diese durch Ammoniak erhaltene Fällung nicht so schön rein weiss, wie die durch die Hitze allein bewirkte. Sie war mehr gallertartig und grauweiss. Um sie ebenfalls in rein weissem Zustande zu erhalten, wurde sie in wenig verdünnter Essigsäure gelöst, filtriert und nur durch Kochen wieder abgeschieden, wobei auch tatsächlich ein rein weisses, flockiges Gerinnsel erhalten wurde.

Die alkoholfällung wies unter dem Mikroskop teils quallenartige Gebilde mit einem stärker hervortretenden, körnigem Kern, teils kleinere, unregelmässig begrenzte Hautfetzen auf. Die Fällung schien keine einheitliche zu sein und war wohl durch Gummi- oder ähnliche Körper verunreinigt. Dies bestätigte sich beim Weiterbehandeln dieses Produktes. Zur Reindarstellung des Phytins — um ein solches handelt es sich nämlich — wurde der gesammte Niederschlag in 1 % Essigsäure aufgenommen, worin das Phytin in Lösung geht, die hautigen Gummikörper aber ungelöst bleiben. Letztere konnten unter dem Mikroskop mit den oben erwähnten hautigen Fetzen indentifiziert werden. Nach der Filtration wurde der Rückstand nochmals in der Reibschale mit 1 % Essigsäure verrieben, um die Ausbeute zu verbessern.

Bei der diesmaligen Reindarstellung des Phytins wurde noch eine Vorsiehtsmassregel beobachtet, nach der auch Winterstein verfahren hat. Diese beruht darauf, die essigsaure Phytinlösung zunächst einmal einige Zeit zu kochen, um eventuell vorhandene Eiweisskörper zu koagulieren. Nach vollständigem Erkalten und damit erfolgtem Wiederlösen des Phytins, wird von den ausgeschiedenen Eiweisskörpern filtriert. Das Filtrat wurde dann heiss gefällt, filtriert und nachgewaschen, bis die Waschwässer nicht mehr sauer reagierten. Eigentümlicher Weise

wurde beobachtet, dass die Waschwässer fortwährend schwache Phosphorsäurereaktion geben, während der Niederschlag selbst in salpetersaurer Lösung keine Reaktion gibt. Behufs weiterer Reinigung wurde nochmals in Essigsäure gelöst, wiederum in der Hitze gefällt, filtriert und gewaschen, wobei die Waschwässer abermals schwache Phosphorsäurereaktion gaben. Hierauf wurde der Niederschlag nochmals in kaltem Wasser aufgeschlämmt, filtriert, und zuletzt mit Alkohol und Äther nachgewaschen. Das getrocknete Produkt stellt ein rein weisses, leichtes Pulver dar, das alle die bereits erwähnten, dem Phytin zukommenden Eigenschaften besitzt.

Die essigsauren Filtrate wurden zum Zwecke möglichst quantitativer Gewinnung des Phytins mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, heiss gefällt und filtriert. Auf diese Weise konnte noch eine ansehnliche Menge Niederschlag erhalten werden. Auch die Spelzen selbst wurden nochmals mit 0,2% Salzsäure extrahiert. Diese zweite Extraktion gab nach dem Filtrieren und Erhitzen keine Ausscheidung mehr. Erst nach der Neutralisation mit Ammoniak und darauffolgendes Erhitzen konnte noch ein merklicher Niederschlag erhalten werden, der auf die gleiche Weise wie oben einem Reinigungsprozess unterworfen wurde. Allerdings war dieses zweite Produkt etwas schwieriger rein zu bekommen als das erste. Im ganzen betrug die Ausbeute aus einem kg Spelzen knapp 4 g reines Phytin.

Da Phytin beim Behandeln mit Mineralsäuren Inosit liefert, wurden mit einem Teil der Substanz zwei Hydrolysen vorgenommen. Die Spaltung verläuft nach der Gleichung:

$$3\ C_2\ H_8\ P_2\ O_9 + 3\ H_2\ O = 6\ H_3\ PO_4 + C_6\ H_{12}\ O_6.$$

Die eine Hydrolyse wurde durch ca. 12stündiges Kochen mit 12,5% Salzsäure am Rückflusskühler ausgeführt. Dabei wurde gleich zn Anfang auf Furfurol geprüft, was mit Anilinazetatpapier deutlich nachgewiesen werden konnte, eine Erscheinung, die auch sonst bei Phytin beobachtet wurde. Um das hydrolysierte Gemisch auf Inosit zu prüfen, wurde die gesammte Lösung in einer Porzellanschale am Wasserbad unter öfterem Wasserzusatz eingeengt und so die Salzsäure grösstenteils verjagt. Ein Tropfen der hydrolysierten Lösung gab starke Phosphorsäurereaktion. Trotzdem war die Spaltung keine vollständige, denn der mit absolutem Alkohol gefällte und ausgewaschene Niederschlag war noch zum grössten Teil unverändertes Phytin und

kein Inosit. Trotzdem gelang der Inositnachweis. Der Inosit sollte mit absolutem Alkohol gefällt werden und aus verdünntem Alkohol umkristallisiert werden. Die Fällung wurde auch demgemäss weiter behandelt. Allerdings kam es zu keiner wahrnehmbaren Kristallisation, doch konnten in der eingedampften, verdünnt alkoholischen Lösung mit Hilfe der Scheerer'schen Reaktion Spuren von Inosit nachgewiesen werden. Diese Reaktion wird folgendermassen angestellt. Man verdampft die zu prüfende Substanz im Platinschälchen mit etwas verdünnter Salpetersäure bis fast zur Trockne. Hierauf lässt man abkühlen, fügt Ammoniak zu, so dass man es deutlich riecht, und einige Tropfen einer Chlorkalziumlösung. Dieses Gemenge verdampft man wieder zur Trockne. War Inosit vorhanden, so tritt eine charakteristische, prächtig rosenrote Färbung auf.

Die zweite Hydrolyse wurde wie folgt durchgeführt. Ungefähr 0,5 g der reinen Substanz wurden mit 15 ccm Schwefelsäure (30 %) während 24 Stunden im Autoklaven bei 140—150° der Hydrolyse unterworfen. Die Flüssigkeit zeigte darnach ein gelbes Aussehen. Am Boden des Gefässes hatte sich ein Kristallbrei abgeschieden. Von diesem wurde abfiltriert und mit Alkohol nachgewaschen. Die Schwefelsäure wurde heiss mit Baryt gefällt und das Bariumsulfat abfiltriert. Merkwürdigerweise war das Bariumsulfat leicht rosa gefärbt. Der überschüssige Baryt wurde mit Ammonkarbonat heiss gefällt. Das Filtrat wurde am Wasserbad bis zum Sirup eingedampft. Eine ganz kleine Menge dieses Rückstandes ergab mittels der Scheerer'schen Reaktion wunderschöne Rosafärbung und zwar so, dass der gesamte Rückstand in der Platinschale gefärbt war.

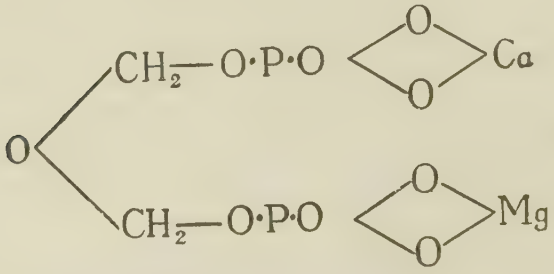
Um den Inosit auch in kristallisiertem Zustand zu erhalten, wurde der Sirup in Wasser gelöst und auf ein kleines Volumen eingeengt. Hierauf wurde mit absolutem Alkohol versetzt, wodurch eine weisse dichte Ausscheidung auftrat, die abfiltriert und mit absolutem Alkohol gewaschen wurde. Diese Fällung wurde wieder in Wasser gelöst, auf ein kleines Volumen eingeengt. Beim Erkalten schieden sich in Rosetten — nach Lippmann blumenkohlartig — Kristalle aus. Unter dem Mikroskop erwiesen diese sich teils als wohlausgebildete Prismen, teils als feine prismatische Nadeln. Diese Kristalle ergaben ebenfalls die Scheerer'sche Inositreaktion und zeigten süssen Geschmack. Als Schmelzpunkt wurde 208° gefunden. Für

Inosit findet man in der Literatur Schmelzpunkte von 218—225° angegeben. In Anbetracht dessen, dass die in Frage stehenden Kristalle nicht als absolut rein anzusehen waren, da sie nicht völlig von der Mutterlauge befreit waren, kann der etwas niedrigere Schmelzpunkt nicht überraschen. Es gibt auch Modifikationen des Inosits, die einen Schmelzpunkt von 205° bis 206° zeigen.

Nachdem somit festgestellt war, dass tatsächlich ein Phytin in Frage kommt, wurde auch zur Elementaranalyse geschritten. Das Trocknen der Substanz bis zur Gewichtskonstanz bereitete einige Schwierigkeiten. 100—105°, die anfangs eingehalten wurden, genügten nicht. Selbst bei 115—120° waren 24 bis 30 Stunden nötig, um keine Gewichtsabnahme mehr konstatieren zu können. Die erste Verbrennung wurde im Porzellanschiffchen vorgenommen und ergab bei 0,2174 g angewandter

Substanz CO_2 0,0624 g = 7,81 % C berechnet: 8,04 % C
„ H_2O 0,0410 g = 2,09 % H „ 1,34 % H

Die beigefügten berechneten Werte ergeben sich aus der Formel für das Kalzium-Magnesiumsalz der gepaarten Phosphorsäure:



Mol. Gew. 298,36

Auf Grund dieser Formel berechnet sich:

C = 8,04 %
H = 1,34 „
P = 20,78 „
Ca = 13,4 „
Mg = 8,16 „

Wie wir später noch ersehen werden, entspricht dieses Phytin nicht der obenstehenden Formel.

Die Verbrennung im Schiffchen war keine vollständige, da die Asche noch von Kohlepartikelchen teilweise schwarz gefärbt

war. Sie wurde deshalb nochmals geglüht bis zur Gewichtskonstanz, wobei der Aschegehalt von 75,55 % auf 72,93 % sank.

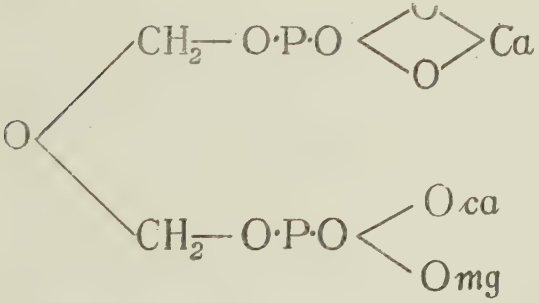
Die Asche wurde analysiert und ergab:

P_2O_5	41,8 %	Ca	20,03 %
od. P	18,2 „	Mg	2,2 „

Eine weitere Veraschung wurde in einer Platinschale vorgenommen. Es resultierten folgende Werte:

Asche	79,54 %	
P_2O_5	39,24 „	od. P = 17,13 %
Ca	20,93 „	
Mg	2,4 „	

Ein anderes Salz für unser Phytin angenommen, liefert Werte, die den gefundenen schon bedeutend näher kommen. Die Konstitution folgendermassen angenommen:



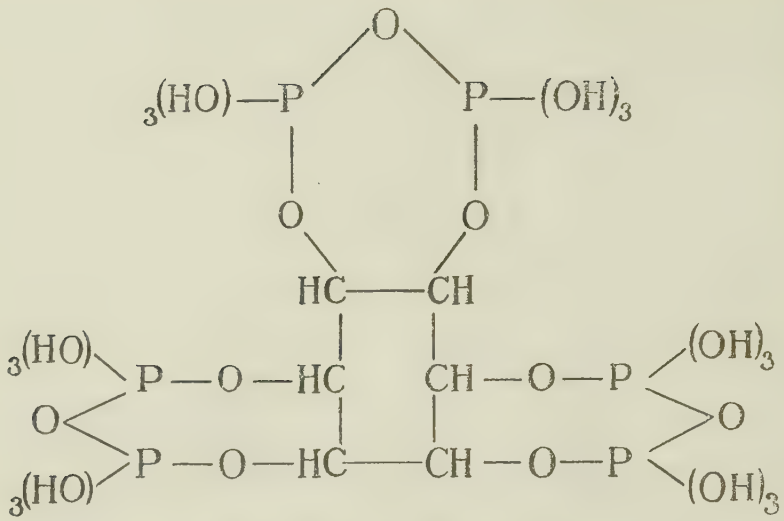
Mol G. ca. = ½ Ca
306,— mg. = ½ Mg

berechnet sich:

C	=	7,84 %
H	=	1,31 „
P	=	20,26 „
Ca	=	19,6 „
Mg	=	3,92 „

Die Auffassung Posternaks, wonach das Phytin beim Behandeln mit Schwefelsäure erst Inosit bilden soll, durch Kondensation der HCOH Gruppe, wird in neuere Zeit nicht mehr geteilt. Neuberg und Brahn[1]) versuchten analoge Kondensationen mit typischen Formaldehydestern zu erreichen, was jedoch nicht gelang. Die genannten Forscher kommen daher zu dem Resultat, wonach in dem Phytin ein präformierter Inositring anzunehmen ist. Sie formulieren es folgendermassen:

[1]) Biochemische Zeitschr. 1908 IX. u. 1907 V.



Mit dieser Annahme steigt natürlich auch die Mannigfaltigkeit in der Salzbildung um ein bedeutendes. Es ist daher noch nicht angängig für dieses Gerstenspelzenphytin eine bestimmte Formel aufzustellen. Es dürfte sich auch hier nicht um ein einzelnes bestimmtes Salz handeln, vielmehr um ein Gemenge verschiedener Salze.

Es mögen noch zwei Elementaranalysen der besonders gereinigten und im Vakuumtrockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz folgen. Bei diesen Analysen wurde der Körper mit gepulvertem Bleichromat gemischt verbrannt.

Verbrennung I.

Angew. Subst. 0,3117 g CO_2 = 0,0952 g C = 8,3 %
H_2O = 0,0527 g H = 1,86 „

Verbrennung II.

Angew. Subst. 0,2706 g CO_2 = 0,0846 g C = 8,49 %
H_2O = 0,0458 g H = 1,87 „

Zum Vergleiche seien die Resultate erwähnt, die Posternak[1]) bei der Analyse seines kristallisierenden Ca-Na-Doppelsalzes, dem er folgende Formel zuschreibt, erhielt.

$$2\,C_2H_4P_2O_9Na_4 + C_2H_4P_2O_9Ca_2 + 8\,H_2O$$

	Berechnet:	Gefunden:	
C	7,45 %	7,25	7,43 %
H	1,24 „	1,34	1,49 „
P	19,26 „	19,42	19,13 „

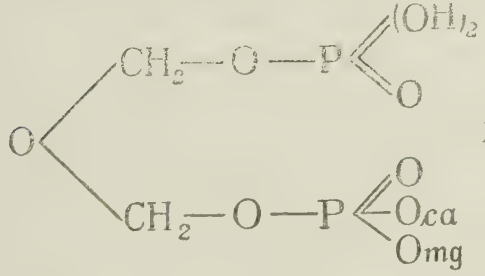
[1]) Comptes rendus 1903.

Schulze und Winterstein[1]), die ihre Resultate auf das nentrale Ca-Mg-Salz, Mol. Gew. 298,36, bezogen, fanden:

	Berechnet:	Spelzenphytin:
C = 9,65	8,04	8,4
H = 2,83	1,84	1,86
P = 15,2	20,78	17,6

Man ersieht daraus, dass auch der Körper der beiden letztgenannten Forscher, die es bestimmt mit einem Phytin zu tun hatten, beträchtliche Abweichungen von den Werten der angenommenen Formel zeigt.

Durch das Entgegenkommen der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel war die Möglichkeit gegeben, das isolierte Gerstenspelzenphytin mit dem Phytin des Handels zu vergleichen. Äusserlich glichen sich beide vollkommen. Beide Körper haben die bereits erwähnte Eigenschaft als komplexe Verbindung mit Molybdänlösung keine oder nur schwache Reaktion zu geben, während die Aschen starke Phosphorsäurereaktion anzeigen. Sie sind beide löslich in verdünnten Mineralsäuren und in Essigsäure, woraus sie auf Zusatz von Ammoniak wieder ausgefällt werden. Die Löslichkeit in Wasser scheint bei dem Basler Präparat etwas grösser zu sein. Letzteres wird als das saure Ca-Mg Salz der Anhydrooxymetylendiphosphorsäure aufgefasst und folgendermassen konstituiert gedacht:



Mol. Gew. 268 ca = ½ Ca, mg = ½ Mg

Die Trocknung dieses Phytins war ebenfalls langwierig und wurde zuletzt im Vakuumtrockenschrank vorgenommen. Die Ergebnisse zweier Elementaranalysen mögen hier folgen. Die obige Formel fordert:

C = 8,95 %
H = 2,23 %

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem.. XI.

Verbrennung I.

Angew. Subst. 0,3488 g

Gefunden: CO_2 = 0,1201 g C = 9,48 %

H_2O = 0,0669 g H = 2,14 „

Verbrennung II.

Angew. Subst. 0,4749 g

Gefunden: CO_2 = 0,1647 g C = 9,45 %

H_2O = 0,0913 g H = 2,13 „

Aus den durchgeführten Untersuchungen und durch den Vergleich mit dem bereits als Phytin erkannten und beschriebenen Körper, kann man zu dem definitiven Schluss kommen, dass die aus den Gerstenspelzen isolierte Substanz auf Grund ihrer Eigenschaften den Ergebnissen der Analyse und Hydrolyse ebenfalls als ein Phytin anzusprechen ist.

Wie noch erinnerlich wurde der erste wässrige Extrakt ohne Ausschaltung einer enzymatischen Wirkung durch einfaches Ausziehen mit destilliertem Wasser gewonnen. Dabei wurde beobachtet, dass kein Phytin mehr oder nur sehr wenig zu erhalten war. Hauptsächlich äusserte sich dies bei der Fällung mit NH_3, wobei fast ausschliesslich ein Gemenge von typischen Ammoniummagnesium- und Kalziumphosphatkristallen resultierte. Dieses Kristallgemisch ergab nach der ebenso wie beim Phytin durchgeführten Reinigung und Trocknung einen Kohlenstoffgehalt von nur 0,8 %. Man ersieht daraus, dass nur äusserst wenig organische Substanz mehr vorhanden war. Der mit Hintanhaltung von Enzymwirkungen gewonnene Auszug dagegen lieferte gar keine anorganischen Phosphate. Deutlich war dies zu erkennen nach der Neutralisation mit Ammoniak. Der erhaltene Niederschlag zeigte unter dem Mikroskop keinen einzigen Kristall, nur ein amorphes einheitliches Gerinnsel, das sich als Phytin herausstellte.

Mithin kann man mit Bestimmtheit annehmen, dass die organischen Phosphorverbindungen durch Enzymwirkung in wässriger Lösung gespalten werden, eine Erscheinung, auf die neben anderen auch Windisch und Vogelsang[1]) hingewiesen haben.

[1]) Wochenschr. f. Br. 1906.

Anhang.

Es mögen noch einige Versuche über die Einwirkung von Enzymen auf Phytin Erwähnung finden.

1. Die Einwirkung von Gerstenextrakt.

Zu diesem Versuche wurden 4mal je 0,2 g Phytin abgewogen und quantitativ in weite Reagierröhren gebracht. In die einzelnen Röhren wurden nun ansteigend 1,3 und 5 ccm eines blank filtrierten Gerstenextraktes (1 : 5) gegeben und jeder dieser drei Versuche mit Wasser auf 20 ccm verbracht. Die vierte Röhre wurde als blinder Versuch nur mit 20 ccm Wasser beschickt. Zu den drei Phytinhaltigen Röhren wurden als Parallelversuch drei Röhren mit nur 1,3 und 5 ccm Gerstenextrakt beschickt und ebenfalls mit Wasser auf 20 ccm gebracht. Die Röhren wurden in den Reischauer'schen Stern gesteckt und 20 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Nach dieser Zeit wurde untersucht, inwieweit eine enzymatische Wirkung des Gerstenextraktes auf das Phytin stattgefunden hatte. Da Phytin für sich allein keine oder nur äusserst schwache Phosphorsäurereakion gibt, so sollte als Masstab der Einwirkung die Stärke der Phosphorsäurereaktion dienen.

Einige bemerkenswerte Beobachtungen seien noch kurz erwähnt. Das Phytin hatte sich in Wasser nicht vollständig gelöst. Die Röhren mit Gerstenauszug zeigten, dass die Löslichkeit mit zunehmendem Gerstenextraktzusatz abgenommen hatte. Eine blank filtrierte Phytinlösung (wässrige) wurde mit Gerstenextrakt versetzt, wobei ebenfalls wieder Ausscheidung des Phytins erfolgte.

Der Versuch wurde folgendermassen durchgeführt. Sämtliche Röhreninhalte wurden filtriert. Von den Filtraten wurden je 5 ccm mittels Pipette wiederum in trockene Reagierröhren gegeben, zu jedem Versuch ferner 5 ccm verdünnte Salpetersäure und 10 ccm Molybdänlösung. Teilweise erfolgte schon beim Salpetersäurezusatz eine Eiweisfällung, die sich beim Molybdänzusatz noch verstärkte. Alle Röhreninhalte wurden wieder filtriert und von den Filtraten je 10 ccm mittels Pipette in trockene Reagierröhren gegeben. Diese wurden jetzt im Reischauer'schen Stern ins heisse Wasser gestellt. Nach erfolgter Fällung war an der Stärke der Niederschläge deutlich eine enzymatische Einwirkung zu erkennen. Am besten trat die Wirkung an dem Versuch mit 1 ccm Gerstenextrakt hervor. Der blinde Versuch mit Phytin in Wasser zeigte ganz geringen Niederschlag. Der Versuch mit 1 ccm Gerstenextrakt ohne Phytin ergab gar keine Reaktion. Die Reaktion aber des Einwirkungsproduktes übertraf an Stärke bedeutend diejenige des blinden Versuchs.

2. Versuche die in gleicher Weise mit einer durch Ammonsulfat gefällten Gerstendiastase, ferner mit einer Merck'schen Diastase durchgeführt wurden, liessen eine Einwirkung nicht erkennen.

3. Ein letzter Versuch wurde mit neutralisiertem 0,2 % salzsaurem Spelzenextrakt unternommen, auf den man wässrigen Spelzenextrakt einwirken liess. Je 50 g Spelzen wurden einmal mit 350 ccm 0,2 % Salzsäure, ein andermal mit 350 ccm Wasser über Nacht extrahiert. Bei den Extrakten wurde festgestellt, wie viele ccm $^{N}/_{2}$ NaOH sie zur Neutralisation der Salzsäure benötigten. Zunächst zeigte dieser Versuch, dass in dem wässrigen Auszug eine stärkere Phosphorsäurereaktion eintrat als in dem salzsauren. Die Versuchsanordnung war so, dass auf je 20 ccm salzsauren neutralisierten Extraktes steigende Mengen wässrigen Extraktes einwirkten. Bei dieser Versuchsreihe konnte wieder eine Zunahme der Reaktion und somit eine enzymatische Wirkung konstatiert werden.

Es sei zum Schlusse erwähnt, dass diese letzten Versuche lediglich qualitative, orientierende Prüfungen darstellen, die schon im Hinblick auf die primitive Methode der Ausführung keinen Anspruch auf absolule Genauigkeit erheben können. Immerhin haben sie doch manches interessante gezeitigt.

Nach den Beobachtungen der Japaner Suzuki und Yoshimura[1]) wird das Phytin durch ein Enzym, welches sie isolieren konnten und Phytase nennen, in wässriger Lösung bei gewöhnlicher Temperatur in Inosit und Phosphorsäure gespalten.

Um zu untersuchen, ob auch in den Gerstenweichwässern der Praxis Phytin anzutreffen ist, wurde 1 hl des nach den ersten 12 Stunden abgelassenen Weichwassers eingedampft und in der bereits bekannten Weise auf Phytin untersucht. Das erhaltene Produkt enthielt jedoch fast ausschliesslich anorganische Phosphate.

Beim Verdunsten des Sirups an der Luft schied sich ein ansehnlicher Kristallbrei aus. Auffallend schöne und grosse Würfel von Chlorkalium konnten daraus ausgelesen werden.

Zusammenfassung.

1. Der Ätherextrakt der Gerstenspelzen lässt sich in ein ausgesprochenes Wachs und ein Fett trennen. Beide lassen sich auf Grund der quantitativen Reaktionen und der festgestellten physikalischen Eigenschaften, den bereits näher bekannten vegetabilischen Wachsen bezw. Fetten an die Seite stellen.

2. In der Gerstenspelze ist ein ätherisches Öl vorhanden, welches sowohl direkt aus den Spelzen mit Wasserdampf ausgetrieben werden kann, als auch aus dem Ätherextrakt. Der Geruch desselben ist äussert intensiv und angenehm honigartig. Möglicherweise verursacht es in sehr verdünntem Zustande das Aroma der Gerste.

3. Sowohl der ätherische wie der alkoholische Extrakt der Spelzen enthalten ungemein bittere, rauhe und teilweise adstringierende Geschmacksstoffe. Dass es nicht gelang den Gerbstoff zu fassen, kann entweder an der Arbeitsweise liegen, oder aber, weil als Hauptsitz desselben die testa in Betracht kommt, die bei dieser Art der Spelzengewinnung am Endosperm bleibt.

4. Da sowohl im Äther- wie Alkoholextrakt Phosphorsäure nachgewiesen werden konnte, dürften, abgesehen vom Phytin, auch andere Phosphatide vermutet werden.

---

[1]) Bull. Coll of Agric. Tokyo 1907.
Annales de la Brass. et Dist. 1908 [Ref.].

5. Aus den Spelzen liess sich bei Hintanhaltung von enzymatischen Wirkungen eine organische Phosphorverbindung isolieren, die nach ihren Eigenschaften und nach dem Ergebnis der Analyse und Hydrolyse als ein Phytin anzusprechen ist.

6. Die anorganischen Phosphate der wässrigen Extraktion sind offenbar durch Enzymwirkung entstanden.

7. Als einfaches Verfahren, um zum Phytin zu gelangen, hat sich bewährt, die Substanz nach Extraktion mit Äther und kochen mit Alkohol, mit 0,2 % Salzsäure zu behandeln. Aus diesem Extrakt lässt sich das Phytin nach Neutralisation mit NH_3 und gleichzeitiges Erhitzen quantitativ erhalten. Für die Reindarstellung empfiehlt es sich, nur die Abscheidung durch die Hitze aus der verdünnt essigsauren Lösung zu wählen.